

TRAITÉ DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS

PCT

NOTIFICATION D'ELECTION

(règle 61.2 du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark
Office
Box PCT
Washington, D.C.20231
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

en sa qualité d'office élu

Date d'expédition (jour/mois/année) 20 mars 2000 (20.03.00)	
Demande internationale no PCT/FR99/01828	Référence du dossier du déposant ou du mandataire 340095/17660
Date du dépôt international (jour/mois/année) 26 juillet 1999 (26.07.99)	Date de priorité (jour/mois/année) 05 août 1998 (05.08.98)
Déposant AMSON, Robert etc	

1. L'office désigné est avisé de son élection qui a été faite:



dans la demande d'examen préliminaire international présentée à l'administration chargée de l'examen préliminaire international le:

01 mars 2000 (01.03.00)



dans une déclaration visant une élection ultérieure déposée auprès du Bureau international le:

2. L'élection



a été faite



n'a pas été faite

avant l'expiration d'un délai de 19 mois à compter de la date de priorité ou, lorsque la règle 32 s'applique, dans le délai visé à la règle 32.2b).

Bureau international de l'OMPI 34, chemin des Colombettes 1211 Genève 20, Suisse no de télécopieur: (41-22) 740.14.35	Fonctionnaire autorisé Maria Kirchner no de téléphone: (41-22) 338.83.38
---	---

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

NOTIFICATION DE L'ENREGISTREMENT D'UN CHANGEMENT

(règle 92bis.1 et
instruction administrative 422 du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

MARTIN, Jean-Jacques
Cabinet Regimbeau
26, avenue Kléber
F-75116 Paris
FRANCE

Date d'expédition (jour/mois/année) 26 janvier 2001 (26.01.01)	NOTIFICATION IMPORTANTE
Référence du dossier du déposant ou du mandataire 340095/17660	
Demande internationale no PCT/FR99/01828	Date du dépôt international (jour/mois/année) 26 juillet 1999 (26.07.99)

1. Les renseignements suivants étaient enregistrés en ce qui concerne:

☒ le déposant ☐ l'inventeur ☐ le mandataire ☐ le représentant commun

Nom et adresse FONDATION JEAN DAUSSET-CEPH 27, rue Juliette Dodu F-75010 Paris FRANCE	Nationalité (nom de l'Etat) FR	Domicile (nom de l'Etat) FR
	no de téléphone	
	no de télécopieur	
	no de téléimprimeur	

2. Le Bureau international notifie au déposant que le changement indiqué ci-après a été enregistré en ce qui concerne:

☒ la personne ☐ le nom ☐ l'adresse ☐ la nationalité ☐ le domicile

Nom et adresse MOLECULAR ENGINES LABORATORIES 20, Rue Bouvier F-75011 Paris FRANCE	Nationalité (nom de l'Etat) FR	Domicile (nom de l'Etat) FR
	no de téléphone	
	no de télécopieur	
	no de téléimprimeur	

3. Observations complémentaires, le cas échéant:

4. Une copie de cette notification a été envoyée:

☒ à l'office récepteur ☐ aux offices désignés concernés
☐ à l'administration chargée de la recherche internationale ☒ aux offices élus concernés
☐ à l'administration chargée de l'examen préliminaire international ☐ autre destinataire:

Bureau international de l'OMPI 34, chemin des Colombettes 1211 Genève 20, Suisse	Fonctionnaire autorisé: Sean Taylor
no de télécopieur (41-22) 740.14.35	no de téléphone (41-22) 338.83.38

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

NOTIFICATION DE L'ENREGISTREMENT
D'UN CHANGEMENT(règle 92bis.1 et
instruction administrative 422 du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

MARTIN, Jean-Jacques
Cabinet Regimbeau
26, avenue Kléber
F-75116 Paris
FRANCEDate d'expédition (jour/mois/année)
26 janvier 2001 (26.01.01)Référence du dossier du déposant ou du mandataire
340095/17660

NOTIFICATION IMPORTANTE

Demande internationale no
PCT/FR99/01828Date du dépôt international (jour/mois/année)
26 juillet 1999 (26.07.99)

1. Les renseignements suivants étaient enregistrés en ce qui concerne:

☒ le déposant ☒ l'inventeur ☐ le mandataire ☐ le représentant commun

Nom et adresse

TELERMAN, Adam
12, rue de la Chaise
F-75007 Paris
FRANCE

Nationalité (nom de l'Etat)

FR

Domicile (nom de l'Etat)

FR

no de téléphone

no de télécopieur

no de téléimprimeur

2. Le Bureau international notifie au déposant que le changement indiqué ci-après a été enregistré en ce qui concerne:

☐ la personne ☐ le nom ☒ l'adresse ☐ la nationalité ☐ le domicile

Nom et adresse

TELERMAN, Adam
6, rue du Pre-aux-Clercs
F-75007 Paris
FRANCE

Nationalité (nom de l'Etat)

FR

Domicile (nom de l'Etat)

FR

no de téléphone

no de télécopieur

no de téléimprimeur

3. Observations complémentaires, le cas échéant:

4. Une copie de cette notification a été envoyée:

☒ à l'office récepteur ☐ aux offices désignés concernés
☐ à l'administration chargée de la recherche internationale ☒ aux offices élus concernés
☐ à l'administration chargée de l'examen préliminaire international ☐ autre destinataire:Bureau international de l'OMPI
34, chemin des Colombettes
1211 Genève 20, Suisse

Fonctionnaire autorisé:

Sean Taylor

no de télécopieur (41-22) 740.14.35

no de téléphone (41-22) 338.83.38

09/762248

JC05 Rec'd PCT/PTO 05 FEB 2001

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Application No. :

U.S. National Serial No. :

Filed :

PCT International Application No. : PCT/FR99/01828

VERIFICATION OF A TRANSLATION

I, Susan POTTS BA ACIS,

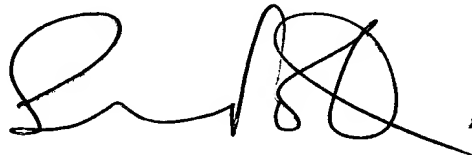
Director to RWS Group plc, of Europa House, Marsham Way, Gerrards Cross, Buckinghamshire, England declare:

That the translator responsible for the attached translation is knowledgeable in the French language in which the below identified international application was filed, and that, to the best of RWS Group plc knowledge and belief, the English translation of the international application No. PCT/FR99/01828 is a true and complete translation of the above identified international application as filed.

I hereby declare that all the statements made herein of my own knowledge are true and that all statements made on information and belief are believed to be true; and further that these statements were made with the knowledge that willful false statements and the like so made are punishable by fine or imprisonment, or both, under Section 1001 of Title 18 of the United States Code and that such willful false statements may jeopardize the validity of the patent application issued thereon.

Date: January 12, 2001

Signature of Director :



For and on behalf of RWS Group plc

Post Office Address :

Europa House, Marsham Way,
Gerrards Cross, Buckinghamshire,
England.

PCT

WORLD INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION

International Bureau

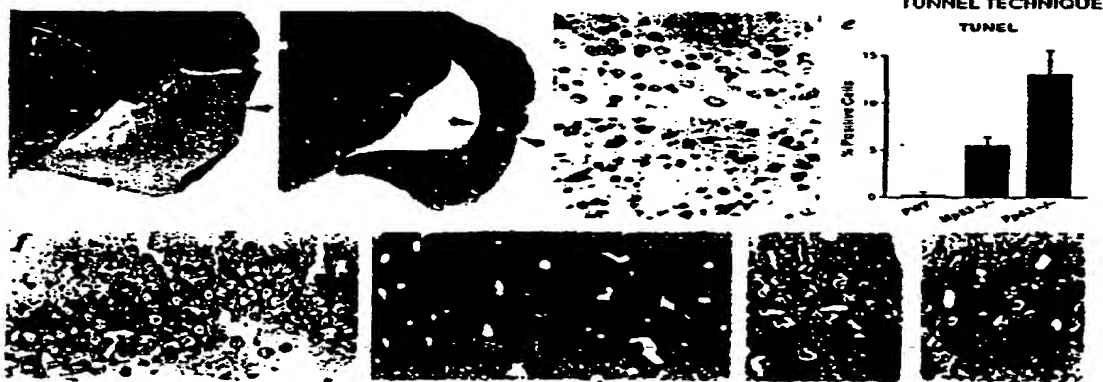
INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(51) International patent classification⁷: A01K 67/027, C07K 14/47, A61K 49/00	A1	(11) International publication number: WO 00/07438 (43) International publication date: 17 February 2000 (17.02.00)
(21) International application number: PCT/FR99/01828 (22) International filing date: 26 July 1999 (26.07.99) (30) Data relating to the priority: 98/10,076 5 August 1998 (05.08.98) FR (71) Applicant (for all designated States except US): FONDATION JEAN DAUSSET-CEPH [FR/FR]; 27, rue Juliette Dodu, F-75010 Paris (FR). (72) Inventors; and (75) Inventors/Applicants (US only): AMSON, Robert [FR/FR]; 10, rue Gay Lussac, F-75005 Paris (FR). LASSALLE, Jean-Michel [FR/FR]; Le Gay, F-31450 Montbrun-Lauragais (FR). TELERMAN, Adam [FR/FR]; 12, rue de la Chaise, F-75007 Paris (FR). (74) Representatives: MARTIN, Jean-Jacques etc.; Cabinet Regimbeau, 26, avenue Kléber, F-75116 Paris (FR).		(81) Designated states: CA, JP, US, European Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Published With the International Search Report.

As printed

(54) Title: USE OF AN ANIMAL MODEL DEFICIENT IN P53 AND HAVING MEMORY DEFICIENCY AND/OR BEHAVIOURAL DISORDERS FOR THERAPEUTIC PURPOSES

(54) Titre: UTILISATION D'UN MODELE ANIMAL DEFICIENT EN P53 ET PRESENTANT UNE DEFICIENCE DE LA MEMOIRE ET/OU DES TROUBLES COMPORTEMENTAUX A DES FINS THERAPEUTIQUES



(57) Abstract

The invention concerns the use of an animal model having a deficient p53 gene and anxiety-related learning and memory and/or behavioural disorders.

(57) Abrégé

L'invention a pour objet l'utilisation d'un modèle animal ayant un gène p53 déficient et présentant des troubles de l'apprentissage, de la mémoire et/ou des troubles comportementaux liés à l'anxiété.

ONLY FOR INFORMATION

Codes used to identify the PCT member States on the flyleaves of the brochures in which international applications made under the PCT are published.

AL	Albania	ES	Spain	LS	Lesotho	SI	Slovenia
AM	Armenia	FI	Finland	LT	Lithuania	SK	Slovakia
AT	Austria	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Senegal
AU	Australia	GA	Gabon	LV	Latvia	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaijan	GB	United Kingdom	MC	Monaco	TD	Chad
BA	Bosnia-Herzegovina	GE	Georgia	MD	Republic of Moldova	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tajikistan
BE	Belgium	GN	Guinea	MK	Former Yugoslav Republic of Macedonia	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Greece	ML	Mali	TR	Turkey
BG	Bulgaria	HU	Hungary	MN	Mongolia	TT	Trinidad and Tobago
BJ	Benin	IE	Ireland	MR	Mauritania	UA	Ukraine
BR	Brazil	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Iceland	MX	Mexico	US	United States of America
CA	Canada	IT	Italy	NE	Niger	UZ	Uzbekistan
CF	Central African Republic	JP	Japan	NL	Netherlands	VN	Vietnam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norway	YU	Yugoslavia
CH	Switzerland	KG	Kyrgyzstan	NZ	New Zealand	ZW	Zimbabwe
CI	Ivory Coast	KP	Democratic People's Republic of Korea	PL	Poland		
CM	Cameroon	KR	Republic of Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kazakhstan	RO	Romania		
CU	Cuba	LC	Saint Lucia	RU	Russian Federation		
CZ	Czech Republic	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Germany	LK	Sri Lanka	SE	Sweden		
DK	Denmark	LR	Liberia	SG	Singapore		
EE	Estonia						

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PC1/FR 99/01828

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A01K67/027 C07K14/47 A61K49/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A01K C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 92 11874 A (BAYLOR COLLEGE MEDICINE) 23 July 1992 (1992-07-23) claim 1 ---	1-6
A	SAH V ET AL: "A subset of p53-deficient embryos exhibit exencephaly" NATURE GENETICS, vol. 10, June 1995 (1995-06), pages 175-180, XP002101318 cited in the application the whole document ---	1-6
A	WO 95 09916 A (RHONE POULENC RORER SA ;MALLET JACQUES (FR); REVAH FREDERIC (FR);) 13 April 1995 (1995-04-13) the whole document --- -/--	1-6

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

11 November 1999

Date of mailing of the international search report

29/11/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Lonnoy, 0

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 99/01828

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 95 19367 A (JOLLA CANCER RES FOUND) 20 July 1995 (1995-07-20) ----	1-6
A	ROPERCH JP ET AL: "Inhibition of presenilin 1 expression is promoted by p53 and p21-WAF1 and results in apoptosis and tumor suppression" NATURE MEDICINE, vol. 4, no. 7, July 1998 (1998-07), pages 835-838, XP002122379 cited in the application ----	1-6
P,A	JIANG Y H ET AL: "Mutation of the Angelman ubiquitin ligase in mice causes increased cytoplasmic p53 and deficits of contextual learning and long-term potentiation" NEURON, (1998 OCT) 21 (4) 799-811, XP002122380 -----	1-6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR 99/01828

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☒ Claims Nos.: 7 - 10
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

See supplementary sheet INFORMATION FOLLOW-UP PCT/ISA/210

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

B x II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ N required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

R mark on Protest

☐
☐

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR 99/01828

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 7-10

Claims 7 to 10 concern the use of an agent defined by reference to a desired property, namely an agent inducing the metabolic path of the p53 gene. The claims cover the use of all agent having said characteristic or property, whereas the application provides a support basis as defined by PCT Article 6 and/or a disclosure as defined by PCT Article 5 for none of said agents. In the present case, the claims are lacking in support and the application is lacking in disclosure to such an extent that it is not possible to carry out any significant search on the whole spectrum covered by the claims. Notwithstanding the reasons evoked above, the claims also lack clarity. Indeed, there has been an attempt to define the agent by the result to be achieved. In the present context, such lack of clarity is likewise such that it is not possible to carry out any significant search on the whole spectrum covered by the claims. Consequently, no search report can be established for Claims 7 to 10.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, concerning inventions in respect of which no search report has been established need not be the subject of a preliminary examination report (PCT Rule 66.1 (e)). The applicant is warned that the guideline adopted by the EPO acting in its capacity as International Preliminary Examining Authority is not to proceed with a preliminary examination of a subject matter unless a search has been carried out thereon. This position will remain unchanged, notwithstanding that the claims have or have not been modified, either after receiving the search report, or during any procedure under Chapter II.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 99/01828

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family* member(s)	Publication date
WO 9211874 A	23-07-1992	AU 1236092 A	17-08-1992
		CA 2098827 A	05-07-1992
		EP 0565638 A	20-10-1993
		JP 6503967 T	12-05-1994
		US 5569824 A	29-10-1996
WO 9509916 A	13-04-1995	FR 2710846 A	14-04-1995
		AU 698242 B	29-10-1998
		AU 7816294 A	01-05-1995
		CA 2173338 A	13-04-1995
		EP 0722496 A	24-07-1996
		FI 961494 A	03-04-1996
		JP 9503915 T	22-04-1997
		NO 961220 A	26-03-1996
WO 9519367 A	20-07-1995	US 5484710 A	16-01-1996
		US 5659024 A	19-08-1997
		US 5908750 A	01-06-1999

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

M.H

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

(article 18 et règles 43 et 44 du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire 340095/17660	POUR SUITE A DONNER voir la notification de transmission du rapport de recherche internationale (formulaire PCT/ISA/220) et, le cas échéant, le point 5 ci-après	
Demande internationale n° PCT/FR 99/ 01828	Date du dépôt international(jour/mois/année) 26/07/1999	(Date de priorité (la plus ancienne) (jour/mois/année) 05/08/1998
Déposant FONDATION JEAN DAUSSET-CEPH et al.		

Le présent rapport de recherche internationale, établi par l'administration chargée de la recherche internationale, est transmis au déposant conformément à l'article 18. Une copie en est transmise au Bureau international.

Ce rapport de recherche internationale comprend 5 feuilles.



Il est aussi accompagné d'une copie de chaque document relatif à l'état de la technique qui y est cité.

1. Base du rapport

- a. En ce qui concerne la **langue**, la recherche internationale a été effectuée sur la base de la demande internationale dans la langue dans laquelle elle a été déposée, sauf indication contraire donnée sous le même point.



la recherche internationale a été effectuée sur la base d'une traduction de la demande internationale remise à l'administration.

- b. En ce qui concerne les **séquences de nucléotides ou d'acides aminés** divulguées dans la demande internationale (le cas échéant), la recherche internationale a été effectuée sur la base du listage des séquences :



contenu dans la demande internationale, sous forme écrite.



déposée avec la demande internationale, sous forme déchiffrable par ordinateur.



remis ultérieurement à l'administration, sous forme écrite.



remis ultérieurement à l'administration, sous forme déchiffrable par ordinateur.



La déclaration, selon laquelle le listage des séquences présenté par écrit et fourni ultérieurement ne vas pas au-delà de la divulgation faite dans la demande telle que déposée, a été fournie.



La déclaration, selon laquelle les informations enregistrées sous forme déchiffrable par ordinateur sont identiques à celles du listage des séquences présenté par écrit, a été fournie.

2. ☒

Il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (voir le cadre I).

3. ☐

Il y a absence d'unité de l'invention (voir le cadre II).

4. En ce qui concerne le **titre**,



le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant.



Le texte a été établi par l'administration et a la teneur suivante:

UTILISATION D'UN MODELE ANIMAL DEFICIENT EN P53 ET PRESENTANT UNE DEFICIENCE DE LA MEMOIRE ET/OU DES TROUBLES COMPORTEMENTAUX A DES FINS THERAPEUTIQUES.

5. En ce qui concerne l'**abrégé**,



le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant



le texte (reproduit dans le cadre III) a été établi par l'administration conformément à la règle 38.2b). Le déposant peut présenter des observations à l'administration dans un délai d'un mois à compter de la date d'expédition du présent rapport de recherche internationale.

6. La figure des dessins à publier avec l'abrégé est la Figure n°



suggérée par le déposant.



parce que le déposant n'a pas suggéré de figure.



parce que cette figure caractérise mieux l'invention.

5e



Aucune des figures n'est à publier.

Cadre I Observations – lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 1 de la première feuille)

Conformément à l'article 17.2)a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1. ☐ Les revendications n°s
se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:
2. ☒ Les revendications n°s 7-10
se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:
Voir feuille supplémentaire SUITE DES REINSEIGNEMENT PCT/ISA/210
3. ☐ Les revendications n°s
sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

Cadre II Observations – lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 2 de la première feuille)

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

1. ☐ Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.
2. ☐ Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prêtaient ont pu être effectuées sans effort particulier justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.
3. ☐ Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n°s
4. ☐ Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est couverte par les revendications n°s

Remarque quant à la réserve

- ☐ Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant.
- ☐ Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUES SUR PCT/ISA/ 210

Suite du cadre I.2

Revendications nos.: 7-10

Les revendications 7 à 10 présentes ont trait à l'utilisation d'un agent défini en faisant référence à une propriété souhaitable, à savoir un agent induisant la voie métabolique du gène p53.

Les revendications couvrent l'utilisation de tout agent présentant cette caractéristique ou propriété, alors que la demande ne fournit un fondement au sens de l'Article 6 PCT et/ou un exposé au sens de l'Article 5 PCT pour aucun de ces agents. Dans le cas présent, les revendications manquent de fondement et la demande manque d'exposé à un point tel qu'une recherche significative sur tout le spectre couvert par les revendications est impossible. Indépendamment des raisons évoquées ci-dessus, les revendications manquent aussi de clarté. En effet, on a cherché à définir l'agent au moyen du résultat à atteindre. Ce manque de clarté est, dans le cas présent, de nouveau tel qu'une recherche significative sur tout le spectre couvert par les revendications est impossible. En conséquence, un rapport de recherche ne peut pas être établi pour les revendications 7 à 10.

L'attention du déposant est attirée sur le fait que les revendications, ou des parties de revendications, ayant trait aux inventions pour lesquelles aucun rapport de recherche n'a été établi ne peuvent faire obligatoirement l'objet d'un rapport préliminaire d'examen (Règle 66.1(e) PCT). Le déposant est averti que la ligne de conduite adoptée par l'OEB agissant en qualité d'administration chargée de l'examen préliminaire international est, normalement, de ne pas procéder à un examen préliminaire sur un sujet n'ayant pas fait l'objet d'une recherche. Cette attitude restera inchangée, indépendamment du fait que les revendications aient ou n'aient pas été modifiées, soit après la réception du rapport de recherche, soit pendant une quelconque procédure sous le Chapitre II.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No

EST/FR 99/01828

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 A01K67/027 C07K14/47 A61K49/00

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
CIB 7 A01K C07K A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie °	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A ✓	WO 92 11874 A (BAYLOR COLLEGE MEDICINE) 23 juillet 1992 (1992-07-23) revendication 1 ---	1-6
A ✓	SAH V ET AL: "A subset of p53-deficient embryos exhibit exencephaly" NATURE GENETICS, vol. 10, juin 1995 (1995-06), pages 175-180, XP002101318 cité dans la demande le document en entier ---	1-6
A ✓	WO 95 09916 A (RHONE POULENC RORER SA ;MALLET JACQUES (FR); REVAH FREDERIC (FR);) 13 avril 1995 (1995-04-13) le document en entier ---	1-6
	-/--	

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

° Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non-
considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international
ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de
priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une
autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à
une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais
postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la
date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la
technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe
ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut
être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité
inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée
ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive
lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres
documents de même nature, cette combinaison étant évidente
pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

11 novembre 1999

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

29/11/1999

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Lonnoy, 0

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	WO 95 19367 A (JOLLA CANCER RES FOUND) 20 juillet 1995 (1995-07-20) ---	1-6
A	ROPERCH JP ET AL: "Inhibition of presenilin 1 expression is promoted by p53 and p21-WAF1 and results in apoptosis and tumor suppression" NATURE MEDICINE, vol. 4, no. 7, juillet 1998 (1998-07), pages 835-838, XP002122379 cité dans la demande ---	1-6
P,A	JIANG Y H ET AL: "Mutation of the Angelman ubiquitin ligase in mice causes increased cytoplasmic p53 and deficits of contextual learning and long-term potentiation" NEURON, (1998 OCT) 21 (4) 799-811, XP002122380 -----	1-6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 99/01828

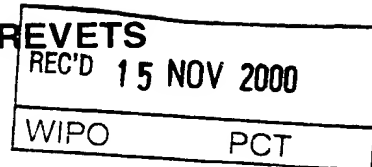
Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9211874	A	23-07-1992	AU 1236092 A CA 2098827 A EP 0565638 A JP 6503967 T US 5569824 A	17-08-1992 05-07-1992 20-10-1993 12-05-1994 29-10-1996
WO 9509916	A	13-04-1995	FR 2710846 A AU 698242 B AU 7816294 A CA 2173338 A EP 0722496 A FI 961494 A JP 9503915 T NO 961220 A	14-04-1995 29-10-1998 01-05-1995 13-04-1995 24-07-1996 03-04-1996 22-04-1997 26-03-1996
WO 9519367	A	20-07-1995	US 5484710 A US 5659024 A US 5908750 A	16-01-1996 19-08-1997 01-06-1999

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

(article 36 et règle 70 du PCT)





Référence du dossier du déposant ou du mandataire 340095/17660	POUR SUITE A DONNER voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/416)	
Demande internationale n° PCT/FR99/01828	Date du dépôt international (jour/mois/année) 26/07/1999	Date de priorité (jour/mois/année) 05/08/1998
Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB A01K67/027		
Déposant FONDATION JEAN DAUSSET-CEPH et al.		

- Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.
- Ce RAPPORT comprend 6 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.
 - ☐ Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuilles contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).

Ces annexes comprennent feuilles.

- Le présent rapport contient des indications relatives aux points suivants:
 - I ☒ Base du rapport
 - II ☐ Priorité
 - III ☒ Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle
 - IV ☐ Absence d'unité de l'invention
 - V ☒ Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration
 - VI ☐ Certains documents cités
 - VII ☐ Irrégularités dans la demande internationale
 - VIII ☒ Observations relatives à la demande internationale

Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale 01/03/2000	Date d'achèvement du présent rapport 13.11.2000
Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international:  Office européen des brevets D-80298 Munich Tél. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Fonctionnaire autorisé Bladier, C N° de téléphone +49 89 2399 7306 

RAPPORT D'EXAMEN PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL

Demande internationale n° PCT/FR99/01828

I. Bas du rapport

1. Ce rapport a été rédigé sur la base des éléments ci-après (*les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées dans le présent rapport comme "initialement déposées" et ne sont pas jointes en annexe au rapport puisqu'elles ne contiennent pas de modifications (règles 70.16 et 70.17.)*) :

Description, pages:

1-13 version initiale

Revendications, N°:

1-10 version initiale

Dessins, feuilles:

1/5-5/5 version initiale

2. En ce qui concerne la **langue**, tous les éléments indiqués ci-dessus étaient à la disposition de l'administration ou lui ont été remis dans la langue dans laquelle la demande internationale a été déposée, sauf indication contraire donnée sous ce point.

Ces éléments étaient à la disposition de l'administration ou lui ont été remis dans la langue suivante: , qui st :

- ☐ la langue d'une traduction remise aux fins de la recherche internationale (selon la règle 23.1(b)).
- ☐ la langue de publication de la demande internationale (selon la règle 48.3(b)).
- ☐ la langue de la traduction remise aux fins de l'examen préliminaire internationale (selon la règle 55.2 ou 55.3).

3. En ce qui concerne les **séquences de nucléotides ou d'acide aminés** divulguées dans la demande internationale (le cas échéant), l'examen préliminaire internationale a été effectué sur la base du listage des séquences :

- ☐ contenu dans la demande internationale, sous forme écrite.
- ☐ déposé avec la demande internationale, sous forme déchiffrable par ordinateur.
- ☐ remis ultérieurement à l'administration, sous forme écrite.
- ☐ remis ultérieurement à l'administration, sous forme déchiffrable par ordinateur.
- ☐ La déclaration, selon laquelle le listage des séquences par écrit et fourni ultérieurement ne va pas au-delà de la divulgation faite dans la demande telle que déposée, a été fournie.
- ☐ La déclaration, selon laquelle les informations nr gistrées sous déchiffrable par ordinateur sont identiques à celles du listages des séquences Présenté par écrit, a été fournie.

4. Les modifications ont entraîné l'annulation :

**RAPPORT D'EXAMEN
PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR99/01828

- ☐ de la description, pages :
- ☐ des revendications, n°s :
- ☐ des dessins, feuilles :

5. ☐ Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué ci-après (règle 70.2(c)) :

(Toute feuille de remplacement comportant des modifications de cette nature doit être indiquée au point 1 et annexée au présent rapport)

6. Observations complémentaires, le cas échéant :

III. Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle

La question de savoir si l'objet de l'invention revendiquée semble être nouveau, impliquer une activité inventive (ne pas être évident) ou être susceptible d'application industrielle n'a pas été examinée pour ce qui concerne :

- ☐ l'ensemble de la demande internationale.
- ☒ les revendications n°s 7-10.

parce que :

- ☐ la demande internationale, ou les revendications n°s en question, se rapportent à l'objet suivant, à l'égard duquel l'administration chargée de l'examen préliminaire international n'est pas tenue d'effectuer un examen préliminaire international (*préciser*) :
 - ☐ la description, les revendications ou les dessins (*en indiquer les éléments ci-dessous*), ou les revendications n°s en question ne sont pas claires, de sorte qu'il n'est pas possible de formuler une opinion valable (*préciser*) :
 - ☒ les revendications, ou les revendications n°s 7-10 en question, ne se fondent pas de façon adéquate sur la description, de sorte qu'il n'est pas possible de formuler une opinion valable.
 - ☒ il n'a pas été établi de rapport de recherche internationale pour les revendications n°s 7-10 en question.
2. Le listage des séquences de nucléotides ou d'acides aminés n'est pas conforme à la norme prévue dans l'annexe C des instructions administratives, de sorte qu'il n'est pas possible d'effectuer un examen préliminaire international significatif:
- ☐ le listage présenté par écrit n'a pas été fourni ou n'est pas conforme à la norme.

**RAPPORT D'EXAMEN
PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR99/01828

☐ le listage sous forme déchiffrable par ordinateur n'a pas été fourni ou n'est pas conforme à la norme.

V. Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

1. Déclaration

Nouveauté Oui : Revendications 1-6
 Non : Revendications

Activité inventive Oui : Revendications
 Non : Revendications 1-6

Possibilité d'application industrielle Oui : Revendications 1-6
 Non : Revendications

**2. Citations et explications
voir feuille séparée**

VIII. Observations relatives à la demande internationale

Les observations suivantes sont faites au sujet de la clarté des revendications, de la description et des dessins et de la question de savoir si les revendications se fondent entièrement sur la description :

RAPPORT D'EXAMEN

Demande internationale n° PCT/FR99/01828

PRELIMINAIRE INTERNATIONAL - FEUILLE SEPAREE

Concernant le point III

Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle

Aucun rapport d'examen n'est effectué pour l'objet des revendications 7-10 car aucun rapport de recherche n'a été établi pour ces revendications et car l'objet de ces revendications n'est pas exposé dans la description ce qui rend leur mise en oeuvre impossible (Article 5 PCT). En conséquence, la présente notification concerne uniquement l'objet des revendications 1-6.

Concernant le point V

Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

molécules criblées sont susceptibles de présenter une activité anxiolytique.

L'effet technique relié à cette différence est l'obtention de molécules capables de soigner l'anxiété.

Le seul problème technique qui découle de cette différence est donc de fournir un procédé pour l'obtention de molécules capables de soigner l'anxiété.

La solution à ce problème proposée par la présente demande est d'utiliser un modèle animal déficient pour l'un au moins des allèles du gène p53 pour le criblage de telles molécules.

La présente demande ne contient aucune indication que les souris déficientes en p53 aient été utilisées comme procédé de criblage de molécules capables de soigner l'anxiété et qu'un tel procédé ait conduit à l'obtention de telles molécules. Rien ne permet donc de penser que le procédé permet de résoudre le problème de l'invention. Or l'effet technique mis en avant pour justifier le choix du procédé revendiqué doit être un effet dont on peut raisonnablement penser qu'il peut être obtenu avec le procédé en question. En conséquence, la présente demande ne satisfait pas aux conditions requises à l'Article 33(3) PCT et donc l'objet de la revendication 1 ne peut être considéré comme inventif a priori.

3. Les caractéristiques des revendications 2-6 sont soit déjà présentes dans l'art antérieur (revendications 3 et 6, voir D2) soit relèvent de démarches techniques de routine (revendications 2, 4 et 5). Elles ne conviennent donc pas pour rendre la revendication 1 inventive dans le cas où elles seraient combinées à cette revendication (Article 33(3) PCT).

Concernant le point VIII

Observations relatives à la demande internationale

L'objet des revendications de la présente demande inclue un modèle animal qui pourrait être humain. Un tel objet est considéré par l'administration chargée de l'examen préliminaire international comme contraire à la moralité.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

RECEIVED

AUG 20 2001

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

TECH CENTER 1600/2900

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 340095/17660	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/FR99/01828	International filing date (day/month/year) 26 July 1999 (26.07.99)	Priority date (day/month/year) 05 August 1998 (05.08.98)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A01K 67/027		
Applicant MOLECULAR ENGINES LABORATORIES		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 6 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of _____ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☒ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☒ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 01 March 2000 (01.03.00)	Date of completion of this report 13 November 2000 (13.11.2000)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR99/01828

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.*):

- ☐ the international application as originally filed.
- ☒ the description, pages 1-13, as originally filed,
 pages _____, filed with the demand,
 pages _____, filed with the letter of _____,
 pages _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the claims, Nos. 1-10, as originally filed,
 Nos. _____, as amended under Article 19,
 Nos. _____, filed with the demand,
 Nos. _____, filed with the letter of _____,
 Nos. _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the drawings, sheets/fig 1/5-5/5, as originally filed,
 sheets/fig _____, filed with the demand,
 sheets/fig _____, filed with the letter of _____,
 sheets/fig _____, filed with the letter of _____.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR99/01828

III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

- ☐ the entire international application.
- ☒ claims Nos. 7-10

because:

- ☐ the said international application, or the said claims Nos. _____
relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

- ☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. _____
are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

x

- ☒ the claims, or said claims Nos. 7-10 are so inadequately supported
by the description that no meaningful opinion could be formed.

- ☒ no international search report has been established for said claims Nos. 7-10

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR 99/01828

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: III

No examination report has been drawn up for the subject matter of Claims 7 to 10 since no search report has been established for these claims and their subject matter is not disclosed in the description, thereby making it impossible to implement them (PCT Article 5).

Consequently, the present report relates only to the subject matter of Claims 1 to 6.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR 99/01828

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-6	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-6	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-6	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Cited documents:

Reference is made to the following documents:

D1: WO-A-92/11874 (1992-07-23);

D2: SAH V et al.: 'A subset of p53-deficient embryos exhibit exencephaly' NATURE GENETICS, Vol.10, June 1995 (1995-06), pages 175-180.

molecules are able to exhibit anxiolytic activity.

The technical effect linked to this difference is that of obtaining molecules able to treat anxiety.

The only technical problem resulting from this difference is therefore that of providing a method for obtaining molecules able to treat anxiety.

The solution to this problem proposed by the present application is that of using a deficient animal model for at least one of the p53-gene alleles for the purposes of screening such molecules.

The present application does not contain any indication that the mice deficient in p53 have been used as part of a method for screening molecules able to treat anxiety and that such a method has led to the production of such molecules. Nothing therefore implies that the method enables the problem stated in the invention to be solved. The technical effect exhibited so as to justify the choice of the claimed method must be an effect which can reasonably be considered to be obtained with the method in question. Consequently, the present application does not satisfy the requirements of PCT Article 33(3) and the subject matter of Claim 1 cannot therefore be considered inventive *a priori*.

3. The features of Claims 2 to 6 are either already present in the prior art (Claims 3 and 6, see D2), or are part of routine technical procedures (Claims 2, 4 and 5). They would not therefore make Claim 1 inventive, should they be combined with this claim (PCT Article 33(3)).

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

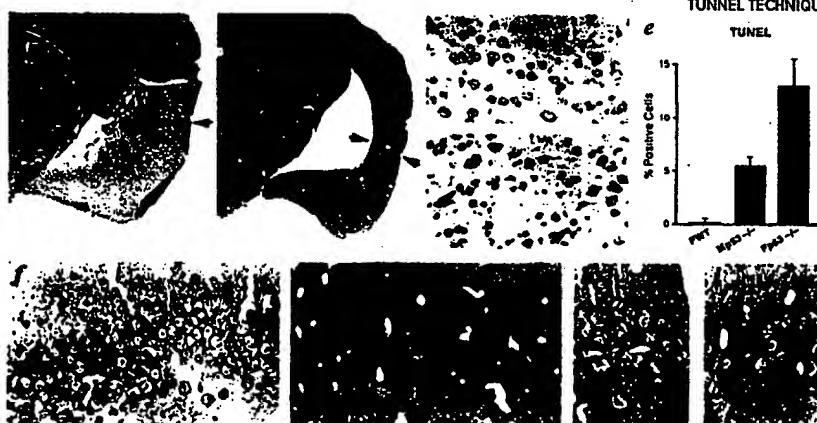
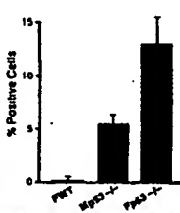
PCT/FR 99/01828

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

The subject matter of the claims of the present application includes an animal model which could be human. Such subject matter is considered by the International Preliminary Examining Authority to be contrary to morality.

DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁷ : A01K 67/027, C07K 14/47, A61K 49/00		A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 00/07438						
			(43) Date de publication internationale: 17 février 2000 (17.02.00)						
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR99/01828 (22) Date de dépôt international: 26 juillet 1999 (26.07.99) (30) Données relatives à la priorité: 98/10076 5 août 1998 (05.08.98) FR (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): FONDATION JEAN DAUSSET-CEPH [FR/FR]; 27, rue Juliette Dodu, F-75010 Paris (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): AMSON, Robert [FR/FR]; 10, rue Gay Lussac, F-75005 Paris (FR). LASSALLE, Jean-Michel [FR/FR]; Le Gay, F-31450 Montbrun-Lauragais (FR). TELERMAN, Adam [FR/FR]; 12, rue de la Chaise, F-75007 Paris (FR). (74) Mandataires: MARTIN, Jean-Jacques etc.; Cabinet Regim- beau, 26, avenue Kléber, F-75116 Paris (FR).		(81) Etats désignés: CA, JP, US, brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Publiée Avec rapport de recherche internationale.							
(54) Title: USE OF AN ANIMAL MODEL DEFICIENT IN P53 AND HAVING MEMORY DEFICIENCY AND/OR BEHAVIOURAL DISORDERS FOR THERAPEUTIC PURPOSES (54) Titre: UTILISATION D'UN MODELE ANIMAL DEFICIENT EN P53 ET PRESENTANT UNE DEFICIENCE DE LA MEMOIRE ET/OU DES TROUBLES COMPORTEMENTAUX A DES FINS THERAPEUTIQUES									
<div style="display: flex; align-items: center;">  <div style="margin-left: 20px;"> <p>TUNNEL TECHNIQUE</p> <p>TUNEL</p>  <table border="1"> <caption>TUNNEL TECHNIQUE Data</caption> <thead> <tr> <th>Group</th> <th>% Positive Cells</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>P53^{-/-}</td> <td>~5</td> </tr> <tr> <td>P53^{+/+}</td> <td>~12</td> </tr> </tbody> </table> </div> </div>				Group	% Positive Cells	P53 ^{-/-}	~5	P53 ^{+/+}	~12
Group	% Positive Cells								
P53 ^{-/-}	~5								
P53 ^{+/+}	~12								
(57) Abstract <p>The invention concerns the use of an animal model having a deficient p53 gene and anxiety-related learning and memory and/or behavioural disorders.</p>									
(57) Abrégé <p>L'invention a pour objet l'utilisation d'un modèle animal ayant un gène p53 déficient et présentant des troubles de l'apprentissage, de la mémoire et/ou des troubles comportementaux liés à l'anxiété.</p>									

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Biélorus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakhstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

UTILISATION D'UN MODELE ANIMAL DEFICIENT EN P53 ET PRESENTANT UNE DEFICIENCE DE LA MEMOIRE ET/OU DES TROUBLES COMPORTEMENTAUX A DES FINS THERAPEUTIQUES

5 La présente invention concerne un modèle animal présentant une
déficiência de la mémoire et/ou des troubles comportementaux liés à l'anxiété.
Elle concerne également l'utilisation de ce modèle animal pour le criblage et la
caractérisation de molécules susceptibles d'agir sur la mémoire et/ou l'anxiété.
Elle propose également l'utilisation d'un composé ou d'une composition pour la
10 préparation d'un médicament destiné auxdits traitements.

Les inventeurs ont en effet établi une relation entre un défaut de
fonctionnalité de la voie moléculaire du gène p53 d'une part et des troubles de la
mémoire et/ou comportementaux liés à l'anxiété d'autre part.

Alors que le rôle du gène p53 en tant que suppresseur de tumeurs a
15 largement été établi par une série d'études (Levine et al., 1991 ; Eliyahu et al.,
1989 ; Michalovitz et al., 1990 ; Hollstein et al., 1991), les investigations sur les
souris déficientes en p53 succombant rapidement à la néoplasie ont contribué à
renforcer cette observation (Donchower et al., 1992). De façon intéressante, à
un niveau particulier de leur développement, une partie significative de ces
20 souris présente des altérations majeures incluant la fermeture anormale du tube
neural (Sah et al., 1995 ; Armstrong et al., 1995) conduisant à une exencéphalie
et ensuite une anencéphalie.

Les inventeurs se sont donc attachés à étudier des souris présentant
une déficiencia au niveau de leur gène p53 mais nées avec un système nerveux
25 central (CNS) intègre. Aucune étude précédente n'a décrit une quelconque
anomalie histopathologique flagrante, cependant, ceci n'exclut pas le fait que le
gène p53 non fonctionnel puisse influencer, à un niveau moléculaire, les voies de
transduction donnant lieu à un fonctionnement anormal du système nerveux
central.

Les inventeurs se sont donc attachés à déterminer si des souris homozygotes ou hétérozygotes quant à la déficience de leur gène p53 présentaient une quelconque particularité au niveau de leur comportement neurologique et cognitif.

5 Deux groupes d'animaux ont été étudiés, de jeunes souris homozygotes p53^{-/-} (c'est-à-dire dont les deux allèles du gène p53 ne sont pas fonctionnels) et des souris adultes hétérozygotes p53^{+/-} (dont un seul des deux allèles du gène p53 n'est pas fonctionnel). Ce choix a été dicté par le fait que les
10 souris p53^{-/-} homozygotes (ou souris dites « knock out ») développent des tumeurs à un stade précoce de leur vie tandis que les souris hétérozygotes développent des tumeurs plus tardivement. Les expérimentations ont donc été réalisées pendant une période de temps où l'animal n'est pas malade puisque les souris portant des tumeurs peuvent avoir un comportement anormal ne résultant pas d'un dysfonctionnement neurologique mais plutôt du fait qu'elles souffrent
15 de leurs tumeurs. Les souris déficientes au niveau de leur gène p53 et utilisées dans le cadre de présente invention sont commercialisées par TACONIC FARMS, USA.

Deux tests ci-dessous présentés en détail ont été réalisés, à savoir la piscine de Morris et l'Open-Field.

20 Le test de la piscine de Morris (Morris et al., 1981, Morris et al., 1984), dans lequel l'apprentissage spatial et la mémoire sont évalués, a été utilisé avec succès dans des études récentes notamment sur des souris modèles présentant les symptômes de la maladie d'Alzheimer (Nalbantoglu et al., 1997, Hsiao et al., 1996).

25 Dans le test de l'Open-Field, des paramètres comportementaux sont mesurés (Archer et al., 1973, Walsh et al., 1976). Cette procédure a déjà été utilisée dans le cadre de l'évaluation du profil psychologique de souris présentant un comportement associé à la peur (Gershenfeld et al., 1997) ainsi

que pour étudier les effets sur le comportement du gène inactivé codant pour le récepteur de l'oestrogène (Ogawa et al., 1997).

Ces tests ont été réalisés en « aveugle » en ce qui concerne l'âge et le génotype des souris.

5 La figure 1 rend compte des résultats obtenus par le test de la piscine de Morris. Il rend compte de l'indice de biais spatial en fonction du génotype des souris. Les figures 1a et 1b concernent les souris jeunes homozygotes p53^{-/-} et les figures 1c et 1d concernent les souris hétérozygotes adultes p53^{-/+}. Dans les deux cas, l'index de biais spatial est calculé
10 immédiatement après l'apprentissage de la composante procédurale du test puis quinze jours après sans entraînement supplémentaire.

 La figure 2 rend compte des résultats obtenus par le test de l'Open-Field consistant à compter le nombre de fois où la souris traverse la partie centrale du champ sachant que l'anxiété qu'elle peut manifester est susceptible
15 de l'en empêcher. Les figures 2a et 2c rendent compte du nombre de traversées du secteur central par les souris p53^{-/-} et p53^{-/+} respectivement comparativement aux souris contrôles. Les figures 2b et 2d représentent le pourcentage du nombre de traversées du secteur central par rapport au nombre total de traversées des mêmes groupes de souris.

20 Les figures 1e et 2e concernent l'analyse de la variance (ANOVA) au moyen d'un schéma de mesures répétées, relativement au comportement des souris. La corrélation au carré (r^2) a été calculée pour expliquer la part de la variance résultant de la déficience du gène p53.

 La figure 3 rend également compte des résultats obtenus par le test
25 de la piscine de Morris en fonction du sexe des souris. Une fois dans l'eau, les souris doivent apprendre à naviguer vers la plate-forme invisible. Après la fin de l'apprentissage, les souris sont soumises au test de l'indice de biais spatial (F = Femelle, M = Mâle, WT = sauvage). Les deux modes d'analyse de la variance ont révélé une interaction du sexe génotypique significative ($F(1,43)=11,63$;

$p=0,001$; $r^2=0,26$). Scheffé post-hoc test : Fp53 -/- versus FWT = 3,25 ; $p = 0,01$; Fp53 -/- versus Mp53 -/- = 2,77 ; $p = 0,043$.

La figure 4 illustre l'activation de p21Waf1 et la répression de PS1 dans le cerveau des souris adultes p53 -/- (il s'agit des souris p53 -/- ayant effectué jeunes les tests de la piscine de Morris et de l'Open-field tels que ci-dessus reportés. A l'analyse, il s'est avéré que ces souris n'avaient pas encore développé de tumeurs).

L'analyse par Northern blot (a-f) de Waf1, PS1 et GAPDH (en tant que contrôle) est réalisée sur des cerveaux de souris jeunes (a-c) et adultes (d-f). La bande 1 correspond à la souris contrôle, les bandes 2-3 aux souris p53 knock-out mâles et femelles. (a-c) correspondent au même Northern blot hybridé avec des sondes différentes. Aucune différence n'a été notée dans l'expression de Waf1 et de PS1 entre le contrôle et les souris knock-out. Pour les souris adultes, l'hybridation est également réalisée sur le même Northern blot (d-f). Les parenthèses pour (GAPDH) et (PS1) indiquent ce qui reste des sondes après la déshybridation dans des conditions non stringentes. Une induction forte de p21 Waf1 (d) et une répression de PS1 (e) sont notées chez les souris p53 déficientes.

L'analyse par Western blot est réalisée sur des extraits protéiques à partir des cerveaux des mêmes animaux adultes (g-i), avec des anticorps anti-Waf1, anti-PS1 et anti-bêta tubuline (en tant que contrôle). La bande 1 correspond à la souris contrôle ; les bandes 2-3 aux souris p53 knock-out. Une expression accrue de p21Waf1 et diminuée de PS1 sont observées chez les souris p53 déficientes.

La figure 5 illustre l'apoptose et l'accumulation intracytoplasmique d'amyloïde bêta 42 dans les cerveaux de souris adultes p53 -/- telles que définies ci-dessus.

(a) et (b) représentent un marquage de l'isocortex à l'haématoxyline et à l'éosine chez une souris contrôle et une souris knock-out respectivement.

Les flèches indiquent un amincissement de l'isocortex chez la souris knock-out (b). Le grossissement est de 6,6 par rapport à l'origine.

(c) et (d) représentent le marquage par la technique TUNEL et le contre-marquage par l'haématoxyline de Harris chez le contrôle (c) et chez la
5 souris knock-out (d). Chez (d), on observe deux noyaux positifs par la technique TUNEL (flèches). Le grossissement est de 132.

(e) illustre la quantification par la technique TUNEL.

(f-i) illustrent l'analyse immunohistochimique utilisant des anticorps spécifiques anti-amyloïde bêta 42. f et h correspondent aux souris contrôles, g et
10 i sont des souris p53 knock-out qui montrent une accumulation intracytoplasmique d'amyloïde bêta 42. (f-g : grossissement x 40, h-i grossissement x 100).

Résultats du test de la piscine de Morris

Les jeunes souris p53^{-/-} et les souris adultes p53^{+/-} satisfont au test
15 d'une manière comparable aux souris contrôle à âge égal. Ceci indique que l'apprentissage spatial de ces souris n'est pas affecté par une quelconque déficience de leur gène p53 (figure 1a et 1c). De façon à mesurer la mémoire de ces souris, elles ont à nouveau été soumises au test de la piscine de Morris après une période de deux semaines et sans entraînement supplémentaire. Les jeunes
20 souris p53^{-/-} présentent un index spatial plus faible mais pas significativement différent de celui montré par les souris contrôle à âge égal (figure 1b). D'un autre côté, les souris adultes p53^{+/-} présentent un index spatial significativement inférieur à celui présenté par les souris contrôle (figure 1d).

Ces résultats montrent qu'une déficience de la mémoire est présente
25 dans ce groupe d'animaux, puisque le véritable niveau de l'index spatial, après une période de quinze jours, dépend seulement de leur capacité à se remémorer le test. Un examen histologique du cerveau des souris adultes p53^{+/-} a été réalisé mais n'a pas révélé d'anomalie (donnée non montrée). Le fait que cette déficience de la mémoire soit seulement visible chez la souris adulte p53^{+/-} et

pas chez la jeune souris p53^{-/-} suggère qu'un facteur dépendant de l'âge, c'est-à-dire l'étape de maturation du cerveau, peut jouer un rôle dans la détection de la déficience de la mémoire. Quand bien même la plupart des études de ce type visant à détecter des anomalies comportementales ou au niveau de la mémoire, dans les maladies neurodégénératives, sont réalisées sur des souris adultes, des souris homozygotes adultes ne pourraient pas être étudiées en raison du développement tumoral et c'est la raison pour laquelle l'étude a porté sur des souris hétérozygotes.

Résultats du test de l'Open-Field

Les jeunes souris p53^{-/-} (figure 2a) et adultes p53^{+/-} (figure 2c) montrent un nombre significativement inférieur de traversées du secteur central comparé au groupe de souris contrôle à âge égal. Puisque le nombre de traversées du secteur central est proportionnel à la capacité des souris à surmonter leur peur de s'éloigner de la paroi, pour explorer un territoire inconnu, ces résultats suggèrent que les souris déficientes en p53 sont plus thigmotaxiques que les souris correspondantes normales (c'est-à-dire qu'elles présentent une plus forte tendance à longer les parois). De façon à exclure la possibilité qu'un nombre faible de traversées du secteur central pouvant être dû à une activité locomotrice globalement diminuée, le nombre de traversées du secteur central a été exprimé comme un pourcentage du total des traversées. Cette activité centrale relative est également significativement diminuée dans les deux groupes de souris déficientes en p53 (figure 2b et 2d).

Les Inventeurs se sont ensuite attachés à approfondir les résultats des tests de la piscine de Morris tels que reportés ci-dessus obtenus pour les souris homozygotes p53^{-/-}, en fonction de leur sexe. Ils ont donc séparé les mesures d'index spatial obtenues pour les souris mâles de ceux obtenues pour les souris femelles et les ont comparées au groupe correspondant contrôle (Figure 3).

Tandis que les mâles p53 $-/-$ ne présentent pas de différence significative avec les contrôles sauvages mâles et femelles, les femelles p53 $-/-$ montrent une performance significativement inférieure au contrôle, ceci indiquant des capacités à mémoriser et un apprentissage spatial moindres.

5 Les Inventeurs ont ensuite poursuivi leurs investigations afin de déterminer si les perturbations des fonctions du système nerveux central chez les souris p53 knock-out étaient corrélées avec des changements de l'expression dans le cerveau de p21Waf1 et PS1 puisque ces deux gènes sont régulés par p53 sauvage et qu'ils sont considérés comme modulateurs de l'apoptose. Ils ont mis
10 en évidence des différences frappantes corrélées à l'âge. Les jeunes souris p53 $-/-$ (âgés de 2 mois) présentent le même niveau d'ARNm correspondant à p21Waf1 et PS1 que les souris contrôles (Figure 4 a-c). Au contraire, les souris adultes p53 $-/-$ (le même groupe sur lequel les tests de la piscine de Morris et de l'Open-field ont été réalisés deux mois plus tôt) présentent une forte
15 augmentation de l'expression de p21Waf1 et de forte répression de l'expression de PS1 (Figure 4 d-f). Compte tenu du fait que PS1 subit un clivage protéolytique, les Inventeurs ont testé son expression au niveau protéique. Comme montré sur la Figure 4h, l'expression de la protéine PS1 est très nettement diminuée chez les souris p53 knock-out. Les Inventeurs ont également
20 testé les souris p53 knock-out concernant des mutations dans la région codante de l'ADNc de PS1. Rien n'a été trouvé. Ces observations suggèrent que les souris p53 knock-out plus âgées surcompensent la perte de p53 par une surexpression de p21Waf avec en conséquence une répression de PS1. Les études antérieures des Inventeurs ont montré que l'expression accrue de
25 p21Waf1 résultait de la répression de PS1 avec une induction de l'apoptose et que l'inhibition de la production de PS1 par un ADNc antisens induisait l'apoptose. Ceci corrobore la notion selon laquelle la diminution de l'expression de PS1 dans le cerveau pourrait causer des altérations dans le fonctionnement du système nerveux central par l'intermédiaire d'une augmentation de l'apoptose.

Le fait que de jeunes souris p53 knock-out présentent déjà des déficiences concernant l'apprentissage, la mémoire et le comportement avant une diminution mesurable de l'expression de PS1 est similaire à ce qui est trouvé dans les maladies neurodégénératives. Des anormalités dans le comportement
5 peuvent s'observer chez des patients atteints de la maladie d' Alzheimer longtemps avant le stade terminal de la maladie dans laquelle il y a neurodégénérescence. Ces données suggèrent un procédé progressant lentement dans lequel les anormalités de la mémoire et du comportement ont lieu avant qu'une répression de PS1 ne devienne mesurable.

10 Les analyses histopathologiques combinées avec la technique TUNEL pour évaluer l'apoptose ont été réalisées sur le même groupe d'animaux âgés montrant une diminution de l'expression de PS1 comme ci-dessus indiqué. Trois des quatre souris n'ont montré aucune anormalité pathologique frappante. Une souris knock-out (femelle) présentait quant à elle un amincissement de plus
15 de 50 % de l'isocortex avec un ventricule très élargi comparé aux animaux contrôles (Figure 5a-b). L'expérimentation par TUNEL a montré des lésions apoptotiques discrètes (Figure 5 d) dans le cerveau sans apoptose massive. La quantification des cellules positives par TUNEL (Figure 5e) a indiqué que, tandis que dans les cerveaux contrôles seulement un cas montrait cinq cellules
20 positives sur 1 740 comptées, les souris p53 -/- avaient jusqu'à 5,5 % (25/465) et 13% (39/305) de cellules positives par TUNEL chez les animaux mâles et femelles respectivement (Figure 5e).

Puisque les patients avec la maladie d'Alzheimer et les souris transgéniques avec des mutations dans PS1 montrent une neurodégénérescence
25 avec apoptose et accumulation d'amyloïde bêta 42, les Inventeurs ont ensuite recherché la présence d'amyloïde bêta 42 dans le cerveau des souris p53 knock-out. Comme montré dans les Figures 5 h-i, les souris déficientes en p53 montrent des niveaux élevés d'amyloïde bêta 42 dans le compartiment cytoplasmique.

En conclusion, ces expérimentations indiquent que l'expression intacte de p53 est nécessaire pour assurer les fonctions complexes du système nerveux central. Ces fonctions incluent la mémoire et un comportement standard dans des situations anxiogènes. Le mécanisme précis selon lequel la perte de la
5 fonctionnalité de p53 interfère avec la mémoire et le comportement peut être dû à une dérégulation de la voie métabolique p53 au niveau moléculaire.

De plus, il a été montré que les souris p53 $-/-$ qui présentaient des déficiences au niveau de la mémoire, dans leur habilité à apprendre, ainsi qu'un comportement anormal avaient des lésions apoptotiques discrètes dans leur
10 cerveau. Ces altérations semblent impliquer une sur-compensation de la déficience de p53 à long terme et dépendant de l'âge par une augmentation de l'expression de p21Waf1 qui conduit à une répression de PS1. Ceci, en retour, compromet l'effet anti-apoptotique de PS1. Ces données indiquent que la perte de la fonction de PS1 par l'intermédiaire, soit de mutations telles que montrées
15 dans les maladies d'Alzheimer familiales précoces, soit par la dérégulation de l'expression comme c'est le cas chez les souris p53 déficientes, active le programme de mort cellulaire. Ceci est couplé avec le métabolisme altéré de l'APP (Amyloïd Precursor Protein) conduisant à l'accumulation de l'amyloïde bêta 42. Ainsi, les Inventeurs ont mis à jour la base à de nouvelles stratégies
20 pour le traitement de maladies neurodégénératives.

Ainsi, de façon surprenante, les inventeurs ont mis en évidence qu'une souris déficiente au niveau de son gène p53 présentait des troubles de l'apprentissage, de la mémoire et/ou des troubles comportementaux tels que l'anxiété.

25 Par conséquent, la présente invention concerne un modèle animal, et en particulier une souris, présentant une déficience de la mémoire, l'animal en question ayant l'un au moins des allèles de son gène p53 non fonctionnel. C'est le cas des souris p53-/+.

Le modèle en question peut en outre présenter des troubles du comportement tels que l'anxiété, et dans ce cas, ce sont les deux allèles du gène p53 de l'animal qui ne sont pas fonctionnels. C'est le cas des souris homozygotes p53^{-/-}, mais également comme indiqué plus haut, des souris
5 p53 ^{-/+} qui présentent également des troubles comportementaux dans une situation anxiogène.

Ainsi, le modèle animal en question peut être utilisé pour le criblage de molécules susceptibles de présenter une activité anxiolytique et/ou de restaurer au moins en partie la mémoire.

10 En effet, après avoir fait subir un quelconque test d'apprentissage à des souris p53^{-/+}, on sait que deux semaines après, elles présentent une déficience de la mémoire. On les traite alors avec une molécule (de préférence soupçonnée d'agir sur la mémoire), et on soumet à nouveau les souris traitées audit test. La molécule ne sera retenue pour des investigations supplémentaires
15 que si elle a permis de restaurer significativement la mémoire desdites souris.

Dans le cadre de tests classiquement effectués dans ce domaine, le modèle animal conforme à l'invention peut également être utilisé pour déterminer les caractéristiques d'une molécule dont on sait déjà qu'elle est susceptible d'agir sur l'anxiété et/ou la mémoire, les caractéristiques concernant
20 la pharmacodynamie, la pharmacocinétique, la toxicité de ces molécules...

Enfin, la présente invention concerne également l'utilisation d'un agent induisant la voie métabolique du gène p53, que ce soit en amont ou en aval de celui-ci, pour la préparation d'un médicament destiné au traitement des troubles de la mémoire, de l'anxiété et/ou de maladies neurodégénératives. En
25 effet, le gène p53 intervient dans une cascade de gènes interagissant les uns avec les autres. L'équilibre de cette cascade est le propre d'un « état normal » se caractérisant par un contrôle de la croissance cellulaire et du processus d'apoptose. Il peut donc être intéressant de pouvoir agir à différents niveaux de la voie moléculaire du gène p53 en fonction du résultat recherché.

Par conséquent, la présente invention concerne également le cas où la susdite induction de la voie métabolique du gène p53 est une induction de l'expression d'un gène activé ou inhibé par le gène p53.

En particulier, l'agent ci-dessus mentionné peut présenter en outre
5 une activité anti-tumorale par l'activation de la voie métabolique ou moléculaire du gène p53. Cet agent peut par exemple être le produit de l'expression de l'un des gènes intervenant dans la cascade ci-dessus mentionnée.

L'invention ne se limite pas à la description ci-dessus et les résultats obtenus dans le cadre des susdites expérimentations seront mieux compris au
10 moyen de la présentation ci-dessous des deux tests auxquels ont été soumises les souris.

METHODES : Mesures comportementales

15 **La piscine de Morris** (Morris, 1981). La piscine circulaire en PVC couleur ivoire de 70 cm de diamètre et 30 cm de hauteur, est remplie d'une eau à $22 \pm 1^\circ\text{C}$, colorée en blanc par adjonction de colorant Opacifier 631®, jusqu'à une hauteur de 12 cm en dessous du bord de la paroi. Une plate-forme circulaire de 5 cm de diamètre servant de but est immergée sous 0,5 cm d'eau, à 7 cm de
20 la paroi. Le dispositif est placé dans une pièce rectangulaire. Deux repères rectangulaires (50 x 30 cm), un noir et un rayé noir et blanc, sont accrochés sur deux murs adjacents, à 1,5 mètre de la piscine. Une caméra vidéo, placée à la verticale de la piscine permet d'enregistrer les trajets des souris sur un magnétoscope en vue de les analyser ultérieurement. L'expérimentateur est
25 dissimulé derrière un rideau blanc. Placées dans l'eau, face à la paroi, dans un quadrant qui varie de manière pseudo-aléatoire d'un essai à l'autre, les souris doivent apprendre à naviguer vers la plate-forme en utilisant les indices visuels distaux disponibles dans la pièce. Après une séance d'entraînement de trois essais destinée à l'apprentissage de la composante procédurale du test, les souris

sont soumises à trois essais consécutifs par jour pendant 4 jours. Le temps maximum autorisé pour atteindre la plate-forme a été fixé à 60 secondes. Si une souris ne peut atteindre la plate-forme dans ce laps de temps, elle est guidée jusqu'à elle par l'expérimentateur. La somme des trois temps de latence
5 constitue le score de la séance. Après le dernier essai de la troisième séance, la souris est soumise à un test de biais spatial destiné à vérifier la précision de l'apprentissage spatial (mémoire à court terme). La plate-forme est alors retirée du dispositif et la souris, partant du quadrant opposé, doit nager à sa recherche pendant une minute. Le trajet est enregistré au magnétoscope et un indice de
10 biais spatial est alors calculé. Il correspond à la différence du nombre de franchissement d'un anneau de 8 cm entourant la position de la plate-forme et du nombre moyen de franchissements des trois anneaux placés symétriquement dans les trois autres quadrants. Un autre test de biais spatial est effectué après un délai de 15 jours sans entraînement supplémentaire (mémoire à long terme).

15 **Open-field** (Archer, 1973 ; Walsh et Cummins, 1976). Les souris sont introduites individuellement dans un cylindre en PVC gris de 40 cm de diamètre et 30 cm de hauteur, placé sur une feuille de papier blanc au travers de laquelle on peut distinguer les traits qui divisent le plancher de l'open-field en 7 secteurs de même surface (1 secteur central et 6 secteurs périphériques). Ce
20 dispositif, éclairé par une lumière blanche diffusant à travers un verre dépoli (125 lux) constitue pour la souris une situation modérément anxiogène. Les souris sont soumises à trois séances quotidiennes de 15 minutes, espacées de 45 minutes et ce, pendant 4 jours consécutifs. Les mesures comportementales sont effectuées pendant les 5 premières minutes de chaque séance. Elles consistent
25 essentiellement à compter le nombre de fois où la souris « s'enhardit » à s'éloigner des parois latérales du cylindre pour traverser le secteur central de l'Open-Field.

REFERENCES

- Amson, R., et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**, 3953-3957 (1996)
- Archer, J. *Animal Behaviour* **21**, 205-235 (1973)
- 5 Armstrong, J.F., Kaufman, M.H., Harrison, D.J. and Clarke, A.R. *Curr. Biol.*, **5**, 931-936 (1995)
- Chapillon, P. and Roullet, P. *Developmental Psychobiology* **29**, 529-545 (1996)
- Donchower, L.A. et al. *Nature* **356**, 215-221 (1992)
- Eliyahu, D., et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **86**, 8763- (1989)
- 10 Gershenfeld, H.K. and Paul, S.M. *Genomics* **46**, 1-8 (1997)
- Hollstein, M., Sidransky, D., Vogelstein, B., Harris, C ; C. *Science* **253**, 49-53 (1991)
- Hsiao, K. et al *Science* **274**, 99-102 (1996)
- Levine, A.J., Momand, J. and Finlay, C.A., *Nature* **351**, 453- (1991)
- 15 Michalovitz, D., Halevy, O. and Oren, M. *Cell* **62**, 671- (1990)
- Morris, R.G. M. *Learning & Motivation* **12**, 239-260 (1981)
- Morris, R.G. M. *J. Neurosci. Meth.* **11**, 47-60 (1984)
- Nalbantoglu, J. et al. *Nature* **387**, 500-505 (1997)
- Nemani, M., et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**, 9039-9042 (1996)
- 20 Ogawa, S., Lubahn, D.B., Korach, K.S. and Pfaff, D.W. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**, 1476-1481 (1997)
- Roperch J.P., Alvaro V., Prieur S., Tuynder M., Nemani M., Lethrosne F., Piouffre L., Gendron M.G., Israeli D., Dausset J., Oren M., Amson R., and Telerman A. Inhibition of Presenilin 1 expression is promoted by p53 and
- 25 p21WAF-1 and results in apoptosis and tumor suppression. *Nature Medicine* 1998 ; **4** : 835-838
- Sah, V.P. et al. *Nat. Genet.* **10**, 175-180 (1995)
- Walsh, R.N. and Cummins, R.A. *Psychological Bulletin* **83**, 482-504 (1976)

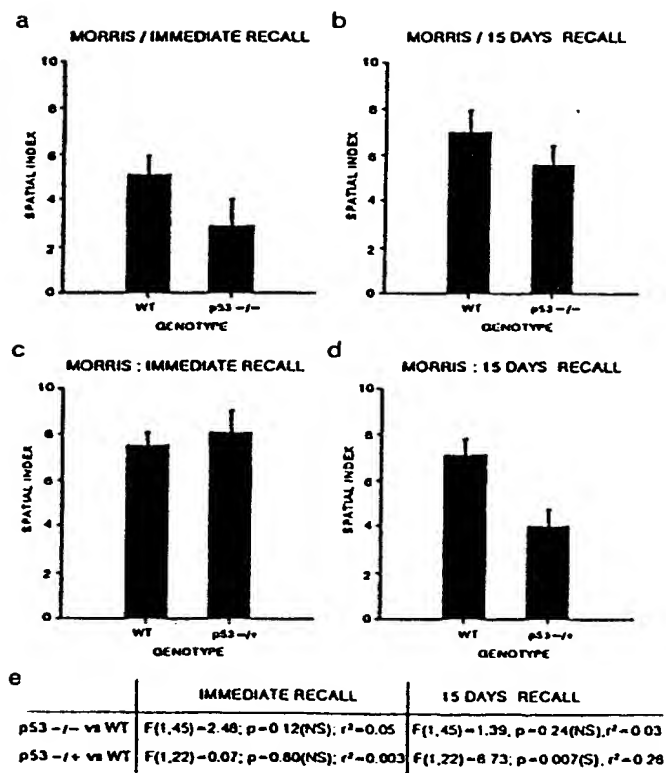
REVENDEICATIONS

- 1- Utilisation d'un modèle animal présentant une déficience de la mémoire et/ou des troubles du comportement tels que l'anxiété, dont au moins l'un des
5 allèles du gène p53 n'est pas fonctionnel, pour le criblage de molécules susceptibles de présenter une activité anxiolytique.
- 2- Utilisation d'un modèle animal tel que défini dans la revendication 1, pour déterminer les caractéristiques d'une molécule présentant une activité anxiolytique telle que la pharmacodynamie, la pharmacocinétique et la
10 toxicité.
- 3- Utilisation d'un modèle animal selon la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce que les deux allèles du gène p53 ne sont pas fonctionnels.
- 4- Utilisation d'un modèle animal tel que défini dans la revendication 1, pour le criblage de molécules susceptibles de restaurer au moins en partie la
15 mémoire.
- 5- Utilisation d'un modèle animal tel que défini dans la revendication 1, pour déterminer les caractéristiques d'une molécule capable de restaurer au moins en partie la mémoire telles que la pharmacodynamie, la pharmacocinétique et la toxicité.
- 20 6- Utilisation d'un modèle animal selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisée en ce que l'animal est une souris.
- 7- Utilisation d'un agent induisant la voie métabolique du gène p53, en amont ou en aval dudit gène, pour la préparation d'un médicament destiné au traitement des troubles de la mémoire, de l'anxiété et/ou de maladies
25 neurodégénératives.
- 8- Utilisation d'un agent selon la revendication 7 dans laquelle l'induction de la voie métabolique du gène p53 est une induction de l'expression d'un gène activé par le gène p53.

- 9- Utilisation d'un agent selon la revendication 7 dans laquelle l'induction de la voie métabolique du gène p53 est une induction de l'expression d'un gène inhibé par le gène p53.
- 10- Utilisation d'un agent selon l'une des revendications 7 à 9, caractérisée en ce
- 5 que ledit agent présente de plus une activité anti-tumorale par l'activation de la voie métabolique du gène p53.

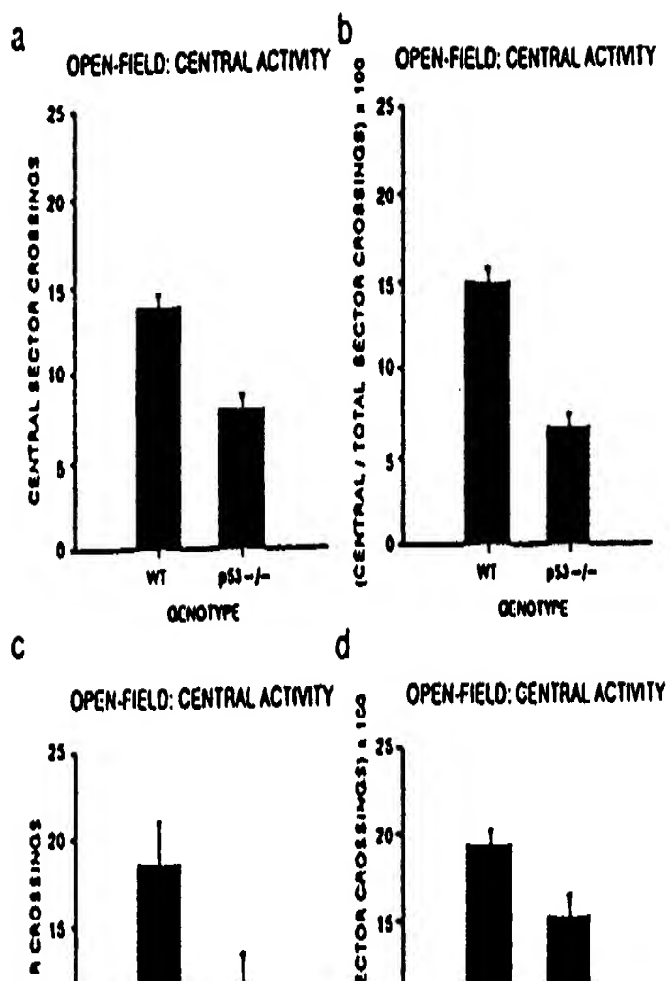
1/5

FIGURE 1



2/5

FIGURE 2



3/5

FIGURE 3

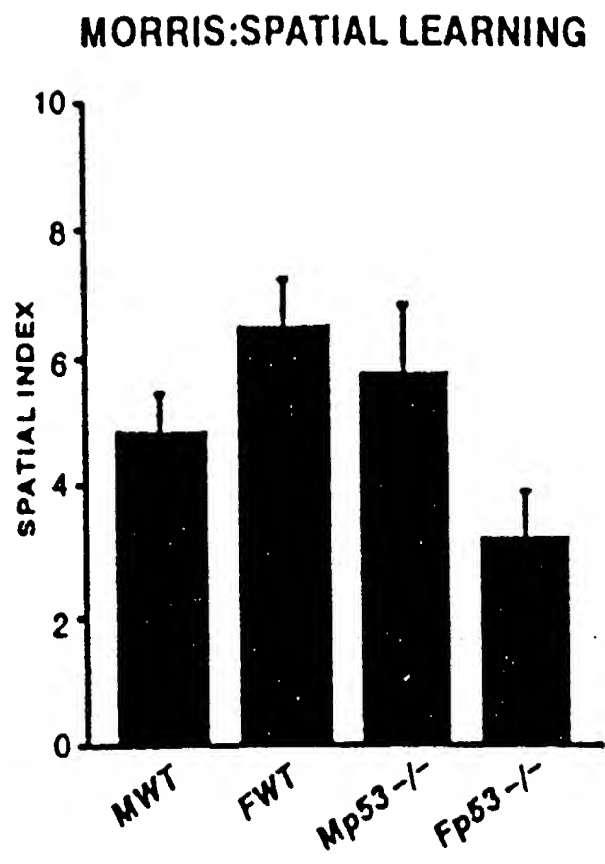


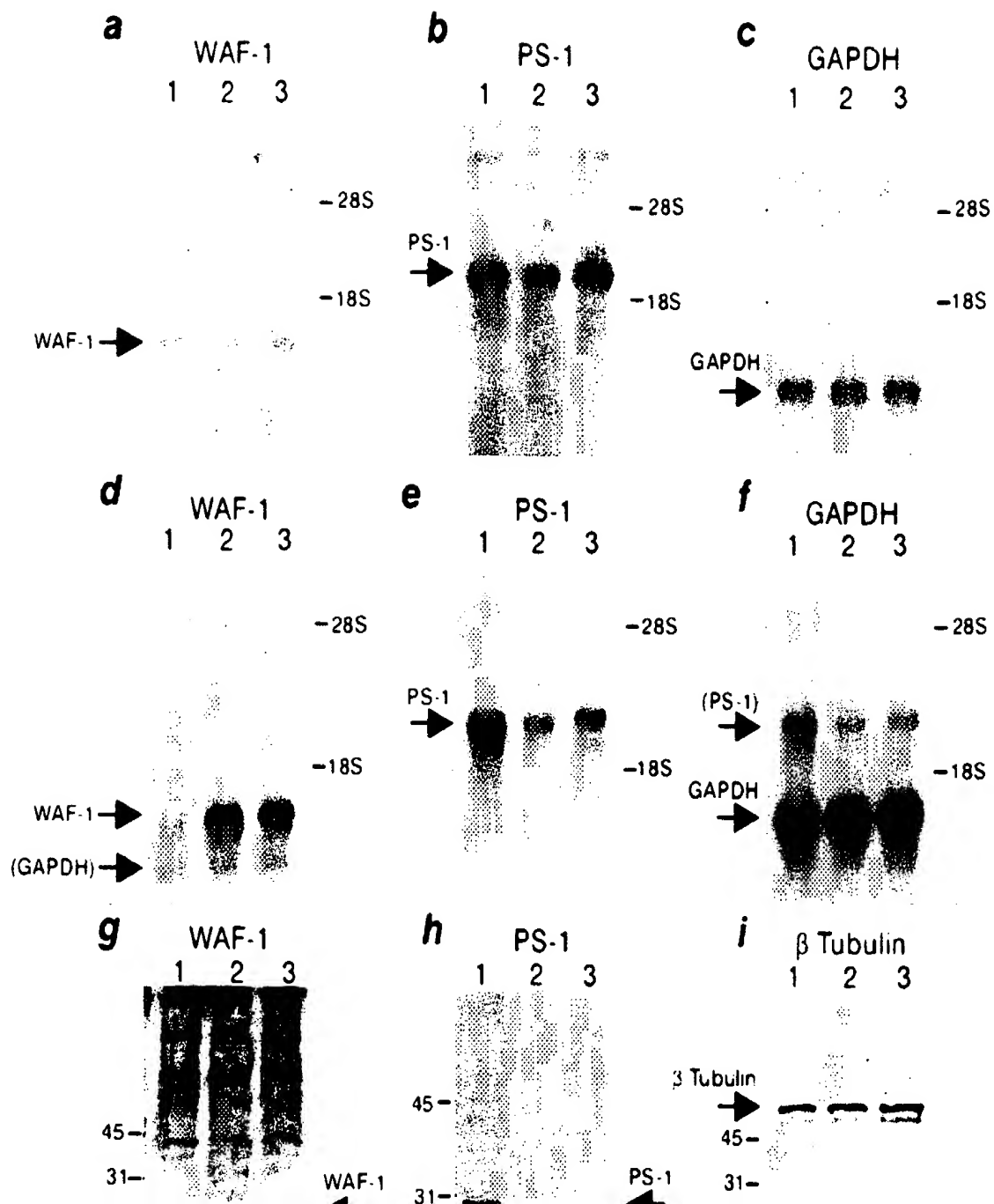
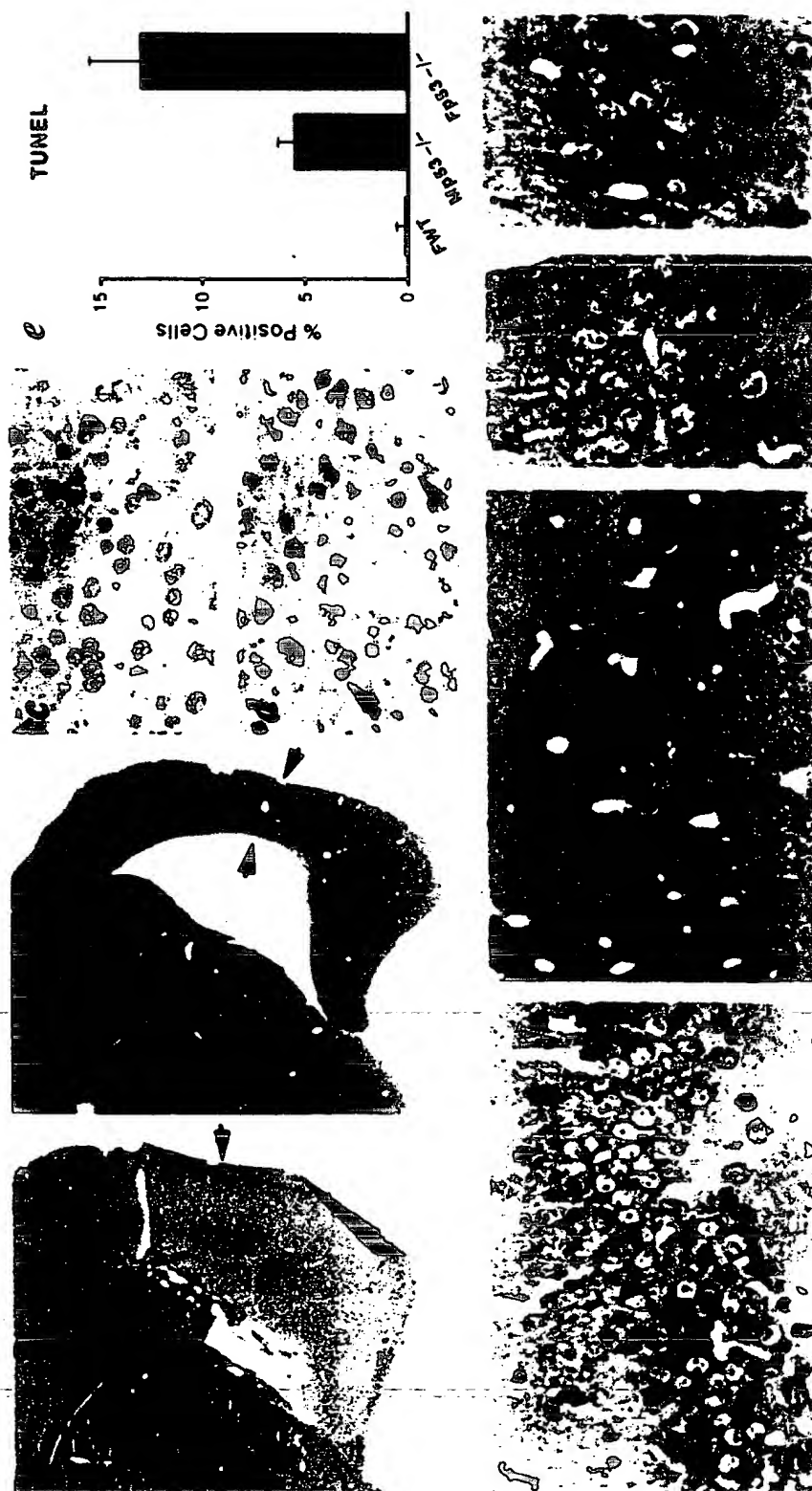
FIGURE 4

FIGURE 5



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PC1/FR 99/01828

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A01K67/027 C07K14/47 A61K49/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A01K C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 92 11874 A (BAYLOR COLLEGE MEDICINE) 23 July 1992 (1992-07-23) claim 1 ---	1-6
A	SAH V ET AL: "A subset of p53-deficient embryos exhibit exencephaly" NATURE GENETICS, vol. 10, June 1995 (1995-06), pages 175-180, XP002101318 cited in the application the whole document ---	1-6
A	WO 95 09916 A (RHONE-POULENC RORER SA ;MALLET JACQUES (FR); REVAH FREDERIC (FR);) 13 April 1995 (1995-04-13) the whole document --- -/--	1-6



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

11 November 1999

Date of mailing of the international search report

29/11/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Lonnoy, 0

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/FR 99/01828

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 95 19367 A (JOLLA CANCER RES FOUND) 20 July 1995 (1995-07-20) -----	1-6
A	ROPERCH JP ET AL: "Inhibition of presenilin 1 expression is promoted by p53 and p21-WAF1 and results in apoptosis and tumor suppression" NATURE MEDICINE, vol. 4, no. 7, July 1998 (1998-07), pages 835-838, XP002122379 cited in the application -----	1-6
P,A	JIANG Y H ET AL: "Mutation of the Angelman ubiquitin ligase in mice causes increased cytoplasmic p53 and deficits of contextual learning and long-term potentiation" NEURON, (1998 OCT) 21 (4) 799-811, XP002122380 -----	1-6

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 7-10

Claims 7 to 10 concern the use of an agent defined by reference to a desired property, namely an agent inducing the metabolic path of the p53 gene. The claims cover the use of all agent having said characteristic or property, whereas the application provides a support basis as defined by PCT Article 6 and/or a disclosure as defined by PCT Article 5 for none of said agents. In the present case, the claims are lacking in support and the application is lacking in disclosure to such an extent that it is not possible to carry out any significant search on the whole spectrum covered by the claims. Notwithstanding the reasons evoked above, the claims also lack clarity. Indeed, there has been an attempt to define the agent by the result to be achieved. In the present context, such lack of clarity is likewise such that it is not possible to carry out any significant search on the whole spectrum covered by the claims. Consequently, no search report can be established for Claims 7 to 10.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, concerning inventions in respect of which no search report has been established need not be the subject of a preliminary examination report (PCT Rule 66.1 (e)). The applicant is warned that the guideline adopted by the EPO acting in its capacity as International Preliminary Examining Authority is not to proceed with a preliminary examination of a subject matter unless a search has been carried out thereon. This position will remain unchanged, notwithstanding that the claims have or have not been modified, either after receiving the search report, or during any procedure under Chapter II.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR 99/01828

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☒ Claims Nos.: 7 - 10
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

See supplementary sheet INFORMATION FOLLOW-UP PCT/ISA/210

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

☐

No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 99/01828

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9211874 A	23-07-1992	AU 1236092 A	17-08-1992
		CA 2098827 A	05-07-1992
		EP 0565638 A	20-10-1993
		JP 6503967 T	12-05-1994
		US 5569824 A	29-10-1996
WO 9509916 A	13-04-1995	FR 2710846 A	14-04-1995
		AU 698242 B	29-10-1998
		AU 7816294 A	01-05-1995
		CA 2173338 A	13-04-1995
		EP 0722496 A	24-07-1996
		FI 961494 A	03-04-1996
		JP 9503915 T	22-04-1997
		NO 961220 A	26-03-1996
WO 9519367 A	20-07-1995	US 5484710 A	16-01-1996
		US 5659024 A	19-08-1997
		US 5908750 A	01-06-1999

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Numéro internationale No

PCI/FR 99/01828

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 7 A01K67/027 C07K14/47 A61K49/00

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 A01K C07K A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	WO 92 11874 A (BAYLOR COLLEGE MEDICINE) 23 juillet 1992 (1992-07-23) revendication 1	1-6
A	SAH V ET AL: "A subset of p53-deficient embryos exhibit exencephaly" NATURE GENETICS, vol. 10, juin 1995 (1995-06), pages 175-180, XP002101318 cité dans la demande le document en entier	1-6
A	WO 95 09916 A (RHONE POULENC RORER SA ;MALLET JACQUES (FR); REVAH FREDERIC (FR);) 13 avril 1995 (1995-04-13) le document en entier	1-6

-/--



Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents



Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

11 novembre 1999

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

29/11/1999

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Lonnoy, 0

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PC1/FR 99/01828

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	WO 95 19367 A (JOLLA CANCER RES FOUND) 20 juillet 1995 (1995-07-20) ---	1-6
A	ROPERCH JP ET AL: "Inhibition of presenilin 1 expression is promoted by p53 and p21-WAF1 and results in apoptosis and tumor suppression" NATURE MEDICINE, vol. 4, no. 7, juillet 1998 (1998-07), pages 835-838, XP002122379 cité dans la demande ---	1-6
P,A	JIANG Y H ET AL: "Mutation of the Angelman ubiquitin ligase in mice causes increased cytoplasmic p53 and deficits of contextual learning and long-term potentiation" NEURON, (1998 OCT) 21 (4) 799-811, XP002122380 -----	1-6

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

ande internationale n°

PCT/FR 99/01828

Cadre I Observations – lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 1 de la première feuille)

Conformément à l'article 17.2(a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1. ☐ Les revendications n^{os} se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:

2. ☒ Les revendications n^{os} 7-10 se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:

Voir feuille supplémentaire SUITE DES REINSEIGNEMENT PCT/ISA/210

3. ☐ Les revendications n^{os} sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

Cadre II Observations – lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 2 de la première feuille)

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

1. ☐ Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.

2. ☐ Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prêtaient ont pu être effectuées sans effort particulier justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.

3. ☐ Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n^{os}

4. ☐ Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est couverte par les revendications n^{os}

Remarque quant à la réserve

- ☐ Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant.
- ☐ Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUES SUR PCT/ISA/ 210

Suite du cadre I.2

Revendications nos.: 7-10

Les revendications 7 à 10 présentes ont trait à l'utilisation d'un agent défini en faisant référence à une propriété souhaitable, à savoir un agent induisant la voie métabolique du gène p53.

Les revendications couvrent l'utilisation de tout agent présentant cette caractéristique ou propriété, alors que la demande ne fournit un fondement au sens de l'Article 6 PCT et/ou un exposé au sens de l'Article 5 PCT pour aucun de ces agents. Dans le cas présent, les revendications manquent de fondement et la demande manque d'exposé à un point tel qu'une recherche significative sur tout le spectre couvert par les revendications est impossible. Indépendamment des raisons évoquées ci-dessus, les revendications manquent aussi de clarté. En effet, on a cherché à définir l'agent au moyen du résultat à atteindre. Ce manque de clarté est, dans le cas présent, de nouveau tel qu'une recherche significative sur tout le spectre couvert par les revendications est impossible. En conséquence, un rapport de recherche ne peut pas être établi pour les revendications 7 à 10.

L'attention du déposant est attirée sur le fait que les revendications, ou des parties de revendications, ayant trait aux inventions pour lesquelles aucun rapport de recherche n'a été établi ne peuvent faire obligatoirement l'objet d'un rapport préliminaire d'examen (Règle 66.1(e) PCT). Le déposant est averti que la ligne de conduite adoptée par l'OEB agissant en qualité d'administration chargée de l'examen préliminaire international est, normalement, de ne pas procéder à un examen préliminaire sur un sujet n'ayant pas fait l'objet d'une recherche. Cette attitude restera inchangée, indépendamment du fait que les revendications aient ou n'aient pas été modifiées, soit après la réception du rapport de recherche, soit pendant une quelconque procédure sous le Chapitre II.

RAPPORT DE CHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs à : membres de familles de brevets

Dem. Internationale No

PCT/FR 99/01828

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9211874 A	23-07-1992	AU 1236092 A	17-08-1992
		CA 2098827 A	05-07-1992
		EP 0565638 A	20-10-1993
		JP 6503967 T	12-05-1994
		US 5569824 A	29-10-1996
WO 9509916 A	13-04-1995	FR 2710846 A	14-04-1995
		AU 698242 B	29-10-1998
		AU 7816294 A	01-05-1995
		CA 2173338 A	13-04-1995
		EP 0722496 A	24-07-1996
		FI 961494 A	03-04-1996
		JP 9503915 T	22-04-1997
WO 9519367 A	20-07-1995	NO 961220 A	26-03-1996
		US 5484710 A	16-01-1996
		US 5659024 A	19-08-1997
		US 5908750 A	01-06-1999